烟粉虱 MEAM1 隐种卵黄原蛋白受体基因 cDNA 的克隆、序列分析及在不同发育时期的表达

程 璐, 郭建洋, 刘树生, 叶恭银*
(浙江大学昆虫科学研究所, 农业部农业昆虫学重点实验室, 杭州 310058)

摘要: 卵黄原蛋白受体(vitellogenin receptor, VgR)是卵黄原蛋白被卵母细胞摄取的关键因子, 在卵黄发生和卵母细胞发育等生理过程中发挥着重要作用。为探讨烟粉虱 *Bemisia tabaci* VgR 的功能, 我们采用 RT-PCR 和 RACE 等技术扩增了烟粉虱 MEAM1 隐种 *B. tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MAEM1) 的 VgR 基因 cDNA 全长序列。生物信息学分析表明, 烟粉虱 MEAM1 隐种的 VgR 基因 cDNA 全长 5 774 bp, 编码 1 919 个氨基酸, 推测分子量约 201 kDa, N-端前 31 个氨基酸为信号肽。烟粉虱 MEAM1 隐种的 VgR 属于低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)家族, 蛋白质三维结构预测分析表明, 该受体具有 LDLR 家族基因典型的保守功能结构域。通过实时荧光定量 PCR 技术研究了烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 基因不同发育时期的表达, 结果表明 VgR 基因在伪蛹期开始表达, 并在羽化后 1 d 达到高峰, 此后逐渐降低, 3 d 后又逐渐升高, 直至羽化后 7 d 达到峰值。研究结果丰富了卵黄原蛋白受体家族基因的数据库, 为今后深入研究并揭示烟粉虱卵黄发生的调控机制奠定了基础。
关键词: 烟粉虱; 卵黄原蛋白受体; 基因克隆; 序列分析; 表达谱
中图分类号: Q966 **文献标识码**: A **文章编号**: 0454-6296(2013)06-0584-10

Molecular cloning, sequence analysis and developmental expression profile of vitellogenin receptor gene in the whitefly *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (Hemiptera: Aleyrodidae)

CHENG Lu, GUO Jian-Yang, LIU Shu-Sheng, YE Gong-Yin* (Key laboratory of Agricultural Entomology, Ministry of Agriculture, Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Vitellogenin receptor (VgR) is one of the key factors during the uptake of vitellogenin (Vg) by oocytes, and plays a critical role in vitellogenesis and oocyte development. In order to define the physiological function of VgR, VgR cDNA in the whitefly, *Bemisia tabaci* Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) was sequenced using the combined methods of reverse transcription PCR (RT-PCR) and rapid amplification of cDNA ends (RACE). The bioinformatical analysis demonstrated that the full-length cDNA of VgR from *B. tabaci* MEAM1 is 5 774 bp in size. The putative mature VgR has 1 919 amino acids with a molecular weight of 201 kDa. The signal peptide at the N-terminal end contains 31 amino acids. The VgR of this whitefly has all the typical conserved domains of the low density lipoprotein receptor (LDLR) family. The expression profile of VgR gene at different developmental stages of the whitefly was detected by real-time quantitative PCR. The results showed that the expression of VgR gene was initiated at the pseudo-pupal period and increased rapidly on the 1st day after eclosion and reached the peak level on the 7th day after eclosion. These results will enrich the gene database of VgR and provide valuable information to ascertain the regulation mechanism of vitellogenesis in *B. tabaci*.
Key words: *Bemisia tabaci*; vitellogenin receptor; gene cloning; sequence analysis; expression profile

烟粉虱 MEAM1 隐种 *Bemisia tabaci* Middle East-Asia (MEAM1)(同"B 型烟粉虱")属半翅目 (Hemiptera), 粉虱科 (Aleyrodidae), 小粉虱属 *Bemisia* (De Barro *et al.*, 2011), 主要通过取食植物

基金项目: 国家自然科学基金创新研究群体项目(31021003); 国家重点基础研究发展规划("973"计划)项目(2009CB119203); 国家自然科学基金青年基金项目(31101674)
作者简介: 程璐, 女, 1988 年生, 吉林白城人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生理生化, E-mail: chenglu802@gmail.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: chu@zju.edu.cn
收稿日期 Received: 2013-02-07; 接受日期 Accepted: 2013-05-07

汁液、传播植物病毒病等为害，因其繁衍扩散速度快、危害严重，导致的产量和经济损失相当严重，素有世界“超级害虫”之称。已有研究表明，烟粉虱的入侵机制可能和烟粉虱生殖与双生病毒的互惠共生有关（Jiu *et al.*，2007；Guo *et al.*，2010，2012），因此，探明其生殖调控的分子机制尤为重要。

昆虫卵黄原蛋白受体（vitellogenin receptor，VgR）属于低密度脂蛋白受体（low density lipoprotein receptor，LDLR）家族，通过卵黄原蛋白受体介导的内吞作用将脂肪体合成分泌至血淋巴的卵黄原蛋白（vitellogenin，Vg），转运至卵母细胞的膜结合小泡上。研究表明，这些受体基因的表达具有卵巢特异性，是主要的内吞作用受体（Tufail and Takeda，2005，2009）。LDLR 家族具有共同的分子结构域特征，包含五大结构域：配体结合域（ligand binding domains，LBDs），具有 6 个保守的半胱氨酸残基；表皮生长因子前体同源域（epidermal growth factor precursor homology domain，EGFPHD），含有 YWTD 结构，可以形成 β 螺旋，也具有 6 个保守的半胱氨酸残基；O-联糖功能域（O-linked sugar domain，OLSD），富含丝氨酸和苏氨酸，许多 LDLRs 都具有 OLSD，但是这个结构域的存在并不是广泛的（Bujo *et al.*，1995a）；跨膜域（transmembrane domain），可以形成一个跨膜的 α 螺旋，将受体锚定在质膜上，每一个 LDLR 成员都含有单独的跨膜域，富含疏水残基，昆虫 VgRs 中发现的疏水残基是丙氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和缬氨酸，这一结构具有高度的保守性。此外，还有胞质尾域（cytoplasmic domain），构成 LDLR 家族受体在细胞内的区域，至少有 1 个 NPXY 结构重复，形成发夹结构，为连接蛋白和信号分子提供结合位点（Sappington and Raikhel，1998a；Tufail and Takeda，2005，2007）。尽管 LDLR 家族分子具有相似的结构，但是这些受体却表现出独特的功能特点，许多受体都参与脂蛋白受体介导的胞吞作用（Goldstein and Brown，1974），也具有细胞外信号传感器的功能，参与神经传导、突触传导或胚胎发育（Schneider and Nimpf，2003）。

VgR 的主要功能是结合并通过介导内吞作用的方式使卵母细胞摄取 Vg，这是动物卵母细胞摄取 Vg 的主要方式，也是动物细胞选择性吸收大分子物质的普遍机制，对动物卵巢的成熟起着至关重要的作用（Roehrkasten and Ferenz，1992；汪明明等，2010；Roth and Khalaila，2012）。另外，VgR 不仅在转运 Vg 过程中起重要作用，在脂蛋白及其他物质的转运及调控路径中也起重要的作用（Sappington and Raikhel，1998b；Ziegler and Antwerpen，2006；Ciudad *et al.*，2006）。目前，已经克隆到完整的 VgR cDNA 序列的昆虫有黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*（Schonbaum *et al.*，1995）、埃及伊蚊 *Aedes aegypti*（Sappington *et al.*，1996）、红火蚁 *Solenopsis invicta*（Chen *et al.*，2004）、美洲大蠊 *Periplaneta americana*（Tufail and Takeda，2005）、德国小蠊 *Blattella germanica*（Ciudad *et al.*，2006）和马得拉蜚蠊 *Leucophaea maderae*（Tufail and Takeda，2007）等。还有部分昆虫 VgR 全长的基因组序列也已完成，包括冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*、丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis* 和西方蜜蜂 *Apis mellilfera*（Tufail and Takeda，2009）。在对 VgR 功能进行研究时，发现当黑腹果蝇 *D. melanogaster* 雌蝇缺少 VgR 基因时，其表型不可育（Schonbaum *et al.*，1995），利用 RNA 干扰（RNAi）技术对德国小蠊 *B. germanica* VgR 基因进行沉默实验，观察到与缺失 VgR 基因的果蝇类似的现象（Ciudad *et al.*，2006）。这种功能上的 VgR 缺失导致了卵母细胞不能进入快速生长阶段，进而不能产卵（Bujo *et al.*，1995b）。这些结果说明 VgR 与卵黄发生及卵母细胞的发育和成熟相关。因此，开展 VgR 的研究有助于深入了解昆虫的生殖生理机制，对控制害虫繁殖力或提高有益昆虫繁殖力均具有重要的意义（Sappington and Raikhel，1998a）。本研究运用 RT-PCR、RACE 以及 real-time quantitative PCR 等技术，克隆了烟粉虱 VgR 基因 cDNA 的全长，并对该序列及其推测蛋白结构以及 VgR 基因的时序表达进行了系统的分析，这将为进一步揭示烟粉虱的生殖生理机制提供基础和依据。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫与植物

烟粉虱 MEAM1 隐种种群为臧连生等自 2003 年 7 月用棉花 *Gossypium hirsutum*（浙棉 1973）维持的种群。饲养条件为：温度 26 ± 1℃，相对湿度 40%～60%，光照周期 16L∶8D 。

将棉花的种子消毒后播种于温室内，待 2～3 片真叶期时移栽于直径 11 cm 的塑料盆内，均用 100 目纱网封盖。定期浇灌营养液，待生长至 6～7 片真叶期的健康植株做供试植株。部分植物用于种

群的维持，植株置于可控温室内的防虫笼内培养(温度 26 ± 1℃，相对湿度 40% ~ 60%，光照周期 16L∶8D)。

1.2 试剂及来源

RNA 提取试剂 Trizol 购于 Invitrogen 公司，反转录试剂盒购于 Fermentas 公司，胶回收试剂盒购于 Qiagen 公司，载体购于 Promega 公司，RACE 试剂盒购于 Clontech 公司。

1.3 总 RNA 的提取及 cDNA 第一链的合成

采用 Trizol(Invitrogen，USA)一步法提取烟粉虱成虫总 RNA，并以总 RNA 为模板，采用 ReverAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas)试剂盒反转录合成第一链 cDNA，作为模板，用于 RT-PCR 扩增，于 -20℃保存。

1.4 引物设计和 PCR 扩增

根据 NCBI 数据库中公布的其他昆虫 VgR 基因的氨基酸序列及核酸序列经 Clustal X 软件分析后选取保守区域，利用 Primer Premier 5.0 设计简并引物。采用的引物见表 1，PCR 反应体系为：1 μL cDNA 模板，5 μL 10 × Trans Start PCR buffer，5 μL 25 mmol/L $MgCl_2$，1 μL dNTPs(10 μmol/L)，上下游引物(10 mmol/L)各 1 μL，0.5 μL Trans Start Taq，35.5 μL 灭菌水。PCR 反应条件为 94℃ 3 min；94℃ 30 s，50℃ 40 s，72℃ 2 min，35 个循环；72℃ 10 min。

1.5 PCR 产物的克隆与测序

PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行鉴定，经 PCR 产物纯化试剂盒纯化后，与 pGEM®-T Easy 载体连接，转化至 TG_1 感受态细胞，接种至含 Amp、X-gal 和 IPTG 的 LB 培养基培养。挑取白色单菌落培养，抽质粒酶切鉴定后，选取含有正确插入片断的菌液测序。

1.6 VgR 基因 cDNA 的 5′末端和 3′末端的获得

根据克隆得到的 VgR 基因 cDNA 序列片段设计 5′RACE 引物和 3′RACE 引物(表 1)，采用 5′-Full RACE Kit (Clontech) 和 3′-Full RACE Kit (Clontech)试剂盒并严格按照试剂盒说明书进行操作，扩增得到目的条带，克隆测序后拼接获得 VgR 基因 cDNA 序列。在拼接序列两端设计引物 VgR-lap Primer F1/VgR-lap Primer R1 和 VgR-lap Primer F2/VgR-lap Primer R2(表 1)进行 PCR 扩增，测序后与已拼接序列进行比对验证，所用引物见表 1。

1.7 氨基酸序列比较和聚类分析

在 NCBI 网站上利用 Blast 进行序列相似性对比分析；运用 Clustal X 和 GeneDoc 对氨基酸进行多重联配分析；聚类树构建采用 MEGA 3.1 软件，用于构建聚类树的同源基因检索自 GenBank/EMBL。在 www.expasy.ch 网站上进行氨基酸 motif 的分析，以 GenBank 数据库中信号肽预测方法，预测蛋白质信号肽，用 pMOEL 软件对蛋白质三维结构进行同源比对及预测分析。

表 1 PCR 扩增 VgR 基因 cDNA 序列所用引物

Table 1 Primers for amplifying the VgR cDNA sequence using PCR

引物用途 Primer use	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5′→3′)
简并引物 Degenerate primer	VgR primer F1	GCY(T/C)TGCATGGAY(T/C)GG h(A/T/C)GATGA
	VgR primer R1	TCGGTGAAGTAS(G/C)ATGTTCCR(A/G)GTAATCCA
RACE 引物 Primers for RACE	VgR-5′RACE Outer Primer	GGATACAGCGATGGTTATGAGGGCA
	VgR-5′RACE Inner Primer	CATCTTTACCGTCCTCACAATCTGC
	VgR-3′RACE Outer Primer	TGACCGCTGAAAGTGGCTTGGAGA
	VgR-3′RACE Inner Primer	ATCCCCGATTACAAAGTGTGCTC
拼接引物 Splicing primers	VgR-lap Primer F1	AGTTGTCCTGATGGGATGAAGC
	VgR-lap Primer R1	CATCTGAGCCGTCCTTACAATC
	VgR-lap Primer F2	TGCCTGTCTTGGTCCAGATTAT
	VgR-lap Primer R2	CATCAGAGTGGTCGTGACAATC
定量 PCR 引物 Primers for qRT-PCR	β-actinF	TCACCACCACAGCTGAGAGA
	β-actinR	CTCGTGGATACCGCAAGATT
	Vgr-F	AACTGGAAAGTAACGGACGC
	Vgr-R	CATCCTCACTTGCCCGAAC

1.8　实时荧光定量 PCR 检测烟粉虱 VgR 基因转录水平

吸取同一时期羽化的烟粉虱成虫 3 000 头，以同一批长势一致的棉花为寄主植物饲养，任其产卵 24 h 后移去成虫。待卵发育至伪蛹期，以解剖针在叶片上挑取伪蛹 200 头，提取总 RNA。羽化后每 24 h 吸取雌虫 200 头，提取总 RNA。采用 Quantity PCR Kit (Bio-Rad) 试剂盒，加入 Quantity PCR Kit (2×) 10 μL，正反向引物各 0.5 μL (约 200 nmol/L)，模板 0.5 μL，灭菌水 8.5 μL。PCR 反应程序：95℃ 2 min；95℃ 20 s，55℃ 31 s，72℃ 32 s，40 个循环；最后加一个溶解曲线分析。反应在 7500 Real-Time PCR System (ABI) 上进行，每个发育时期样品设 3 次重复。mRNA 相对含量的计算采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法 (Livak *et al.*, 2001)。

2　结果与分析

2.1　烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 基因克隆及序列同源性分析

烟粉虱 MEAM1 隐种的卵黄原蛋白受体 VgR cDNA 序列全长 5 774 bp (GenBank 登录号：HM017828)，编码 1 919 个氨基酸，5′端非编码区 201 bp，推测蛋白质分子为 201 kDa (图 1)。推导氨基酸序列比对分析发现，烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 属于 LDLR 家族。VgR 基因序列开放阅读框及其推导氨基酸序列与其他昆虫 VgR 基因的比对结果见图 2，烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 基因的氨基酸序列同美洲大蠊 *P. americana* 同源序列 (GenBank 登录号：BAC02725.2) 的一致性达 83%，与德国小蠊 *B. germanica* 同源序列 (GenBank 登录号：CAJ19121.1) 的一致性达 74%。

2.2　烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 蛋白质结构比较分析

烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 基因保守结构域分析发现 (图 2)，该受体具有五大功能域：配体结合域、表皮生长因子前体同源域、跨膜域、O-联糖功能域及胞质尾域。以 NCBI 数据库中的蛋白质三维结构数据库搜索到的低密度脂蛋白受体为模板构建三维结构，结果显示 VgR 在 N-端分别由两组各 6 个 β 折叠形成两个环状结构 (图 3)，在 C-端有一个由一对 β 折叠形成的跨膜结构，对 C-端很长的线状结构分析认为蛋白质结构不太稳定。

利用在线工具 Signal IP2.0 软件对烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 信号肽分析，发现信号肽位于 N-端前 31 个氨基酸 (图 1)。利用 MEGA 3.1 软件对不同物种的 VgR 氨基酸序列构建系统进化树，采用 NJ 法 (neighbor joining) 重复 1 000 次。分析结果 (图 4) 表明，昆虫 VgR 在进化上具有较好的保守性，烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 在进化上与同属于半翅目的豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* VgR (GenBank 登录号：XP_001944152.2) 最为接近。与其他昆虫 VgRs 蛋白结构比较发现，烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 与红火蚁 *S. invicta* VgR (AAP92450.1) 结构相似 (图 5)，均具有两个配体结合域 (LBD)，且第一个 LBD 含有 4 个 A 型重复序列 (Chen *et al.*, 2004)，而其他昆虫 VgRs 如美洲大蠊 *P. americana* VgR (BAC02725.2)、埃及伊蚊 *A. aegypti* VgR (AAK15810.1)、冈比亚按蚊 *A. gambiae* VgR (XP_310672.5)、黑腹果蝇 *D. melanogaster* VgR (AAB60217.1) 等则具有 5 个 A 型重复序列。

2.3　烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 基因转录表达

以 *β-actin* 作为内参基因，利用实时荧光定量 PCR 对不同发育时期烟粉虱 MEAM1 隐种体内 VgR 基因的转录水平分析结果表明，VgR 基因在羽化前伪蛹期就开始表达，在羽化后 1 d 达到高峰，此后逐渐降低。3 d 后转录表达量又逐渐升高，直至羽化后 7 d 达到峰值，羽化后 7 d 的烟粉虱卵黄原蛋白受体转录水平较伪蛹期提高 3.4 倍 (图 6)。

3　讨论

本研究克隆了烟粉虱 MEAM1 隐种的 VgR 全长 cDNA，结构上具有五大功能域：配体结合域、表皮生长因子前体同源域、跨膜域、O-联糖功能域及胞质尾域，与其他昆虫卵黄原蛋白受体基因类似，属于低密度磷脂蛋白受体基因家族 (Sappington *et al.*, 1995, 1996; Schneider, 1996; Sappington and Raikhel, 1998b; Tufail and Takeda, 2009)。研究表明，卵黄原蛋白受体的配体结合域是一个介导配体和受体相互作用的功能域，含有 A 型重复序列，每个重复序列含有 6 个半胱氨酸残基及一些保守性酸性残基。保守型酸性残基能与 Ca^{2+} 配合，修正配体结合时所需的立体结构 (Fass *et al.*, 1997；汪明明等，2010)。烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 含有两个配体结合域，同其他昆虫类似 (Chen *et al.*, 2004)，但是烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 第一个配体结构域只有 4 个富含半胱氨酸的 A 型重复序列，这与一般的模

```
1     ATGATTCAGAGGGAATGGAGCTCCATATCCAAGGGCTCATGGTGCACAGCATTATTAGTA
1      M  I  Q  R  E  W  S  S  I  S  K  G  S  W  C  T  A  L  L  V
61    GTTATCGCAGTCTTTTGCACATTTGTACAATCATCTTCATCATATGAATGTGTCGGACCA
21     V  I  A  V  F  C  T  F  V  Q  S  S  S  S  Y  E  C  V  G  P
121   TCCCATTTCGAATGTACAAATCACAGGTGTATATCCATGGATTTAAGGTGCGATGGAGAT
41     S  H  F  E  C  T  N  H  R  C  I  S  M  D  L  R  C  D  G  D
181   GACGATTGTAATGATGGATCCGATGAACACGGTTGTAATGTGGATAAATCAAAAAATGAA
61     D  D  C  N  D  G  S  D  E  H  G  C  N  V  D  K  S  K  N  E
241   ACCTGTGCTAGTACCCAGTTTGATTGCGGTCAGGGCCAATGTATACCACGGTCCTGGGTT
81     T  C  A  S  T  Q  F  D  C  G  Q  G  Q  C  I  P  R  S  W  V
301   TGTGATGGGAATGCAGATTGTGAGGACGGTAAAGATGAAGGAGCTGTAGGCTGCGCTGAA
101    C  D  G  N  A  D  C  E  D  G  K  D  E  G  A  V  G  C  A  E
361   AGCCATTGCGCAGCGTCTGAGTGGGAGTGCCCTCATAACCATCGCTGTATCCCGAATGAT
121    S  H  C  A  A  S  E  W  E  C  P  H  N  H  R  C  I  P  N  D
421   TATATCTGTGATGGGGATGATGATTGTGGTGACAATTCAGATGAAGACGACTGTACAGGC
141    Y  I  C  D  G  D  D  D  C  G  D  N  S  D  E  D  D  C  T  G
481   AAGAATAATTTTACAGAGTGCACTTCAGCGTTTGGAAAATTTCTCTGCAAAAATAGGAAT
161    K  N  N  F  T  E  C  T  S  A  F  G  K  F  L  C  K  N  R  N
541   CAGTGCATCGATGATTCTCTTCTGTGCAACGGGCACCCTGACTGTAAAGATGGGTCAGAT
181    Q  C  I  D  D  S  L  L  C  N  G  H  P  D  C  K  D  G  S  D
601   GAGGGTGGTCACTGTGCTTCGAAAGCTCAAGTAGCTACTGACTGTGCAAAGCTAAACTGT
201    E  G  G  H  C  A  S  K  A  Q  V  A  T  D  C  A  K  L  N  C
661   ACCCACTCGTGTGTTGAAAGCCCAGATGGACCGGTTTGCGTCTGTGGATCAGGATATCAC
221    T  H  S  C  V  E  S  P  D  G  P  V  C  V  C  G  S  G  Y  H
721   CTTGAAGGAAACGTCTGTGAAGATATTAATGAGTGCTTGGAATGGGGAACATGTGACCAA
241    L  E  G  N  V  C  E  D  I  N  E  C  L  E  W  G  T  C  D  Q
781   ATGTGTGAAAACACGGTCGGAGGTTACATCTGTGAATGTGAACCTGGATACAAACTGGAA
261    M  C  E  N  T  V  G  G  Y  I  C  E  C  E  P  G  Y  K  L  E
841   AGTAACGGACGCACATGCAAAGCAGAAGAGGGTGAAGGACTTCTGATCTATTCAAGCCTC
281    S  N  G  R  T  C  K  A  E  E  G  E  G  L  L  I  Y  S  S  L
901   AAAAAGATTAAGTCTCTATATCTGACATCTCGCATATCAATGACAGTTGCCTCTGAGGTT
301    K  K  I  K  S  L  Y  L  T  S  R  I  S  M  T  V  A  S  E  V
961   CCATATGCGACAGGTGTGTCTTTTGATGGTAAACATGTCTATTGGACGACCGTGCTTGAT
321    P  Y  A  T  G  V  S  F  D  G  K  H  V  Y  W  T  T  V  L  D
1021  GGAGTTGAATCTATTGTTCGGGCAAGTGAGGATGGATCTCATGAAACCACCATTGTTGAT
341    G  V  E  S  I  V  R  A  S  E  D  G  S  H  E  T  T  I  V  D
1081  TCAGGTGTTGGCTCCCCTGAAGACCTAGCTGTCGACTGGGTGACTGGTAACATATACTTC
361    S  G  V  G  S  P  E  D  L  A  V  D  W  V  T  G  N  I  Y  F
1141  ACTGATGGCGAGTACCAACAGATCGGCATTTGCACCTACAACGAAGAGCTGGTTGAAACG
381    T  D  G  E  Y  Q  Q  I  G  I  C  T  Y  N  E  E  L  V  E  T
1201  AAATGCGCTGTCCTCCACAACAAAGACCTGAACAAGCCCCGCGCAATTGTTTTAAACCCA
401    K  C  A  V  L  H  N  K  D  L  N  K  P  R  A  I  V  L  N  P
1261  GCTGATGCGGTCATGTACTGGTCTGATTGGGGCTTTAAACCACTCATCGCCCGTTCTGGA
421    A  D  A  V  M  Y  W  S  D  W  G  F  K  P  L  I  A  R  S  G
1321  ATGGATGGCACAGACTTCTATGAGTTTGTAACGACAGAGCTCCATTGGCCCAATGGTCTC
441    M  D  G  T  D  F  Y  E  F  V  T  T  E  L  H  W  P  N  G  L
1381  ACAATTGATCACGGAAATCGGAGAGTATATTGGATCGATGCGAGACTCGGAACTGTTGAA
461    T  I  D  H  G  N  R  R  V  Y  W  I  D  A  R  L  G  T  V  E
1441  ACTGTTGATTTTCAAGGCCGTGATCGGCGGAAAATATTAACTGATCTCAATGATCATCCT
481    T  V  D  F  Q  G  R  D  R  R  K  I  L  T  D  L  N  D  H  P
1501  TTCGCAATCGCTGTTTTTGAAGATAAAATCTATTGGAGTGGATGGACAAACCAAGAAATA
501    F  A  I  A  V  F  E  D  K  I  Y  W  S  G  W  T  N  Q  E  I
1561  GTAGAATGTAATAAGTTCACCGGGAAAAACCGAGTACAAGTTGTCAAAAGTCGGAAAGAC
521    V  E  C  N  K  F  T  G  K  N  R  V  Q  V  V  K  S  R  K  D
1621  AAAATTTACGGTGTGCACATTTTTCACCCAACTTTGCAAAATCATTCGCTACCAAATCCG
541    K  I  Y  G  V  H  I  F  H  P  T  L  Q  N  H  S  L  P  N  P
1681  TGCGCCGGGAAGTGCAGTGACATCTGTGCTCTATCTCCATCAGCTTCAAGCGGAGGCAAA
561    C  A  G  K  C  S  D  I  C  A  L  S  P  S  A  S  S  G  G  K
1741  GGCTACTCTTGCTTGTGCCCTGACAATAAAATCTTATCCCCCTCTGGAGAATGGTGCCAA
581    G  Y  S  C  L  C  P  D  N  K  I  L  S  P  S  G  E  W  C  Q
1801  GAACAGCCCAAAGAATCTGTCATTGTTAGCATTGGAAACTTTGTTTTCCAGCTGAAAGTG
601    E  Q  P  K  E  S  V  I  V  S  I  G  N  F  V  F  Q  L  K  V
1861  ACTCTTGGGAAGCAGTACATTCATCCGCTGCCTGTTAATAACCTCCAGTCTGTCAGTGCA
621    T  L  G  K  Q  Y  I  H  P  L  P  V  N  N  L  Q  S  V  S  A
1921  ATCGTCTACAACTCCTTTGATGGCTCTCTATTAATAGCTGACCCAGATGCCAAAATGATT
641    I  V  Y  N  S  F  D  G  S  L  L  I  A  D  P  D  A  K  M  I
1981  TACTCGTATCAACTGAACACGGACACCATGGAGACTCTAATTGATCTCAAAGTGGGCTAT
661    Y  S  Y  Q  L  N  T  D  T  M  E  T  L  I  D  L  K  V  G  Y
2041  GTCTCAGCATTGGCTTACGATCCCATTGGCCGGAATCTCTATTGGTGCGACAAAGAGGCC
681    V  S  A  L  A  Y  D  P  I  G  R  N  L  Y  W  C  D  K  E  A
2101  GGCACTGTAGAAGTGTTCAGTTTCTTCTCTCACAGAAGGAAGTTGTTGCTCCGGGAATTT
701    G  T  V  E  V  F  S  F  F  S  H  R  R  K  L  L  L  R  E  F
2161  GACGATGAAAAACCTTTCGCCATGACTCTCATACCAGAAGAAGGCCTGATGTTCGTCATT
721    D  D  E  K  P  F  A  M  T  L  I  P  E  E  G  L  M  F  V  I
2221  GCCAAAGCCCATGACCACCTTCACATTGATCGGATCAACATGGATGGCTCACTAAGCACA
741    A  K  A  H  D  H  L  H  I  D  R  I  N  M  D  G  S  L  S  T
2281  CTGACTCACATGACCAGTCTCAAGTTGCAAGGACCGGATGTAGCTTTGCACTATGACAGT
761    L  T  H  M  T  S  L  K  L  Q  G  P  D  V  A  L  H  Y  D  S
2341  GATTCTCGCAGGGTTTATTGGGCTGATCACTCAGCTGGCCTCATTGAGAGCACCGATACG
781    D  S  R  R  V  Y  W  A  D  H  S  A  G  L  I  E  S  T  D  T
2401  AATGGAAACGACAGGCAAGTATACCGTGACGTATCATCACCTTTAGCTCTGACCGATGTG
801    N  G  N  D  R  Q  V  Y  R  D  V  S  S  P  L  A  L  T  D  V
2461  GATAGAGACCTTTATTGGACATCAGATGGTCGCCCACACCTGTACTACTCTGAGAAAAGC
821    D  R  D  L  Y  W  T  S  D  G  R  P  H  L  Y  Y  S  E  K  S
2521  AATGCAAGCATGCCCGTCAGGAAAATCAACATGGAACGATTTTTGCGATCACCAAAGGAC
841    N  A  S  M  P  V  R  K  I  N  M  E  R  F  L  R  S  P  K  D
2581  CACTATCGGATGTTTGTTACTGCAATCATCCCTGATAAAACTACTAGAGATCATCCTTGC
861    H  Y  R  M  F  V  T  A  I  I  P  D  K  T  T  R  D  H  P  C
2641  CAAACTAACAATGGCAAGTGTAGCCATTTTTGCCTCCTCACCAGTCGTAATCCAAAGCAT
881    Q  T  N  N  G  K  C  S  H  F  C  L  L  T  S  R  N  P  K  H
2701  GTATGCAGTTGTCCTGATGGGATGAAGCTGGCGGATAATGGTCAGGACTGTGAAGAGATT
901    V  C  S  C  P  D  G  M  K  L  A  D  N  G  Q  D  C  E  E  I
2761  GCTGCATGTGGAGCACATGAATACCATTGCACGACAGGTGAATGCATTCCAATGTCGAAG
921    A  A  C  G  A  H  E  Y  H  C  T  T  G  E  C  I  P  M  S  K
2821  AAATGCGACCGAAACAAGGATTGCCCCTATGGCGAAGATGAGACCTTCTGCCCAGCACAG
941    K  C  D  R  N  K  D  C  P  Y  G  E  D  E  T  F  C  P  A  Q
2881  TGTGAGACTGATCAGTTTGCGTGCTTTGATGGACAAAAATGTATCGATGCCAAGGATAGA
961    C  E  T  D  Q  F  A  C  F  D  G  Q  K  C  I  D  A  K  D  R
2941  TGCAACATGCATTTTGATTGTCACGACCACTCTGATGAGGCTAACTGCCAAAATGTCACC
981    C  N  M  H  F  D  C  H  D  H  S  D  E  A  N  C  Q  N  V  T
3001  TGCGATCAATCATACAACTTTTTGTGCCGAATCGGTGAGTGCGTAAGTCACGCTGTGCTG
1001   C  D  Q  S  Y  N  F  L  C  R  I  G  E  C  V  S  H  A  V  L
3061  TGCAATAATGAATGGAATTGCAAGGACGGTAGTGATGAAGAGAACTGTACGACTTCCACG
1021   C  N  N  E  W  N  C  K  D  G  S  D  E  E  N  C  T  T  S  T
3121  TGCCCTTCCAGCGAGTCTCGGTGTCATTCCGGAACATGCATACCGAAGAACTGGGTCTGT
1041   C  P  S  S  E  S  R  C  H  S  G  T  C  I  P  K  N  W  V  C
3181  GATCTGGATGCCGATTGCCCCGACCAATCAGATGAAAATAACTGCAGTTTCTCAAGAAAA
1061   D  L  D  A  D  C  P  D  Q  S  D  E  N  N  C  S  F  S  R  K
3241  GAAAAGTGCACCGAATTCTTATGTCAGAGTGGCATGTGTGTAGCACAGGAACTTGTCTGT
1081   E  K  C  T  E  F  L  C  Q  S  G  M  C  V  A  Q  E  L  V  C
3301  AACGGTCAAACCGAATGTGACGATGGAAGTGACGAATTCAATTGCGATGAGCCGGTTCCA
1101   N  G  Q  T  E  C  D  D  G  S  D  E  F  N  C  D  E  P  V  P
```

```
3361    AAAACGGCAAACAAAGAGGATGGTTTTATAGATAACTGTGATGAAGAGAAGGAGTTCATG
1121     K  T  A  N  K  E  D  G  F  I  D  N  C  D  E  E  K  E  F  M
3421    TGCGAGCCTGGCAAATGCATTAATCTTATATTCAAGTGTAATGGTGTTAAAGATTGCGAG
1141     C  E  P  G  K  C  I  N  L  I  F  K  C  N  G  V  K  D  C  E
3481    AACGGAGCTGATGAGCTAAACTGCATAGGCTGTGAACAATTCACTTGCAATAATGGGAAA
1161     N  G  A  D  E  L  N  C  I  G  C  E  Q  F  T  C  N  N  G  K
3541    TGCATCACTTATGATCTTGTATGCAATGATGATGATGACTGTGGTGACTCATCCGATGAA
1181     C  I  T  Y  D  L  V  C  N  D  D  D  D  C  G  D  S  S  D  E
3601    AGACCTCTCAACTCGTGCCCAGACAGCAAAGAAAACCCAGCTATTGTGCCTGCTCATATT
1201     R  P  L  N  S  C  P  D  S  K  E  N  P  A  I  V  P  A  H  I
3661    CCCAATGTGTGCCATGGATTTGTTTGCAAGAACGGTGAATGCCTTGATGATTTCAGTCTA
1221     P  N  V  C  H  G  F  V  C  K  N  G  E  C  L  D  D  F  S  L
3721    GTCTGCAACAAAAAGCAAGATTGTAAGGACGGCTCAGATGAAGGTGGACGATGCGGTTCA
1241     V  C  N  K  K  Q  D  C  K  D  G  S  D  E  G  G  R  C  G  S
3781    AGCTGTGATGTGACAGCAAATTGCAGTCAGATTTGTCGTGATAAGCCAAATGGACATGAG
1261     S  C  D  V  T  A  N  C  S  Q  I  C  R  D  K  P  N  G  H  E
3841    TGTGCGTGTGTCCCTGGCTTTAAAATTGCTGAGGATGGCCGCGATTGCGAGGATATTGAT
1281     C  A  C  V  P  G  F  K  I  A  E  D  G  R  D  C  E  D  I  D
3901    GAGTGCACCGAATTGGAGCCGTGTAGCCAGATGTGTTTCAACACCTATGGAAGTTACACC
1301     E  C  T  E  L  E  P  C  S  Q  M  C  F  N  T  Y  G  S  Y  T
3961    TGTGCCTGTCTTGGTCCAGATTATATTAAAAAGTCAGATGGGTCCTGCAAAGCCACTGGC
1321     C  A  C  L  G  P  D  Y  I  K  K  S  D  G  S  C  K  A  T  G
4021    CCAAAATTGCAGTACGTGTTTGCTACCGGTTACCAGATTCGCACTATATCATACCTAATG
1341     P  K  L  Q  Y  V  F  A  T  G  Y  Q  I  R  T  I  S  Y  L  M
4081    ACCGATGTCAAAGTGGCATACTATAGTGCAGATCTTGAAGTTTCAGGATTTGATGTGAAC
1361     T  D  V  K  V  A  Y  Y  S  A  D  L  E  V  S  G  F  D  V  N
4141    ATGAGAACAGAGCATGTCTACTGGTCATCTGAAAACAAGGGTGTCATCACAAAAATGTCA
1381     M  R  T  E  H  V  Y  W  S  S  E  N  K  G  V  I  T  K  M  S
4201    TTAACGCACAGACACGAGCCAAAACATTTCATCACTGGTTTACGCCGTCCATCAGAGCTG
1401     L  T  H  R  H  E  P  K  H  F  I  T  G  L  R  R  P  S  E  L
4261    GCAGTCGATTGGATAACACACAACCTCTACTTTGTCCAAGCAAGGAACATCATTAATGTC
1421     A  V  D  W  I  T  H  N  L  Y  F  V  Q  A  R  N  I  I  N  V
4321    TGTAACTTCCACCTTGAACGCTGCGCACAAATTTTGACCGCTGAAAGTGGCTTGGAGATC
1441     C  N  F  H  L  E  R  C  A  Q  I  L  T  A  E  S  G  L  E  I
4381    AACAGTCTTGCYGTYGATCCTGTCAGAGGWGTCCTTTTCTGGAGTGAAACAAGCCGYATC
1461     N  S  L  A  V  D  P  V  R  G  V  L  F  W  S  E  T  S  R  I
4441    GTCTGGAATATGCCTAAGAGCTCCATTAGACGCGCAGACATGAATGGAAAAAATATTGAG
1481     V  W  N  M  P  K  S  S  I  R  R  A  D  M  N  G  K  N  I  E
4501    ACCATTGTTTCAGCCAATGTGAGCTACGCATTGGATCTTGCTCTAGATCCAATCCTCAAT
1501     T  I  V  S  A  N  V  S  Y  A  L  D  L  A  L  D  P  I  L  N
4561    CATGTCTATTGGGTCGACAAAACATTGAAGGTCATTGAAAGAGCCAACTATGATGGAACT
1521     H  V  Y  W  V  D  K  T  L  K  V  I  E  R  A  N  Y  D  G  T
4621    CGCCGACGTGTCATCTTGACATCAAAGTTCCATCCAAAATCTGTTGCGCTCTTTGATGGT
1541     R  R  R  V  I  L  T  S  K  F  H  P  K  S  V  A  L  F  D  G
4681    TCTATCTACTGGTCAGTTGAGTCGAGTGGATCCCCGATTACAAAGTGTGCTCTTCAAGGA
1561     S  I  Y  W  S  V  E  S  S  G  S  P  I  T  K  C  A  L  Q  G
4741    CTTTCCACGGAATCGTACTCGTGCAATCAAATCCCAATCAAAGTTGTAGATCCAATAACT
1581     L  S  T  E  S  Y  S  C  N  Q  I  P  I  K  V  V  D  P  I  T
4801    CACTTCACTCTCATGCAACCAGCTCTGCAAAGAAACATATCAAACGCTTGTAGGAACATG
1601     H  F  T  L  M  Q  P  A  L  Q  R  N  I  S  N  A  C  R  N  M
4861    GAGTGCAGTCACATGTGCGTTCTCAGCTCGACATTACCATCATGCATTTGTCGCAATGGA
1621     E  C  S  H  M  C  V  L  S  S  T  L  P  S  C  I  C  R  N  G
4921    AAGATAGTTCCTCCAAAAACAGCCTGTACGGATAGCAATTATATGCCAGAAACCCACTTT
1641     K  I  V  P  P  K  T  A  C  T  D  S  N  Y  M  P  E  T  H  F
4981    TTGGAAACAACTGGAACTGTTGATGGTCAAAGTCCTGGATATTCTTGGTCATCAATCTGT
1661     L  E  T  T  G  T  V  D  G  Q  S  P  G  Y  S  W  S  S  I  C
5041    GCAACAATCATCTTAGTCGCTTTCATCGGAACAACTTTCTATGCCTTATTCTACTACTAT
1681     A  T  I  I  L  V  A  F  I  G  T  T  F  Y  A  L  F  Y  Y  Y
5101    AACTCCAAGTACAACATGCGACGTCTATTTCCATCAATTCATTTTAAAAATCCAGCCTTC
1701     N  S  K  Y  N  M  R  R  L  F  P  S  I  H  F  K  N  P  A  F
5161    AACCTACAGTCAAAATTCCAGGCTAATGGGATGACCGGTTTAGCCAGTGGCAACCATATG
1721     N  L  Q  S  K  F  Q  A  N  G  M  T  G  L  A  S  G  N  H  M
5221    GCTCACTTGTCATCGAAGGACCATCATTTCGAAAACCCTCTGCAAGAGAGTCGTGAAGGT
1741     A  H  L  S  S  K  D  H  H  F  E  N  P  L  Q  E  S  R  E  G
5281    GAAGTGAGAATCGTTACTCCAAATGAAATCACGATTAGCCGAGCCGAGACCAGTTGGACA
1761     E  V  R  I  V  T  P  N  E  I  T  I  S  R  A  E  T  S  W  T
5341    TCAGCCCATCTAGAAGACTCAAGCTCTATAGAAACAGAATACGCAGACCTTGTTGTCGAG
1781     S  A  H  L  E  D  S  S  S  I  E  T  E  Y  A  D  L  V  V  E
5401    ACAAACCCCAAAGCTAATTTGATATCGTGATACTCTTTAATCATTTGAAAAATGCAGTCG
1801     T  N  P  K  A  N  L  I  S  *
5461    TGTAAATATGTTGTACAGTTTGTTTTTTGTTGAATCTTTTAATTTATCTATGCATTTGTT
5521    GTTTGTATAAATTTTTATTACCATATTTTGGTGTCTTCGGAACTGAAGTCAGTCAAATTT
5581    ATCGAGTCAAATTTCATATCGATCAGATCAGTTTATGGTGTTTTTATATTTGTTTAAAGA
5641    AGATTGATCCATTTTTATCAAAAGCATCTGTCAATTATCTTCCTTAGAAAAATGATACAA
5701    TCTAAATTTTTTCAAATTTATAATACAAGGAAAAAAAAAAAAACCTATAGTGAAATCACTA
5761    GTGGAGGATCCGCG
```

图 1　烟粉虱 MEAM1 隐种卵黄原蛋白受体(VgR)基因 cDNA 全长及推导氨基酸序列

Fig. 1　Nucleotide and deduced amino acid sequence of the VgR cDNA of *Bemisia tabaci* MEAM1

信号肽用下划线标识。The signal peptide is underlined.

式中含有 5 个或 8 个 A 型重复序列不同，该特征与入侵昆虫红火蚁 *S. invicta* 的 VgR 结构更相似(Chen *et al.*, 2004)。烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 跨膜结构域位于 C-端，且具有不常见的 O-联糖功能域，目前该结构域的功能尚不明确，有些人认为与受体的延伸有关(Sappington and Raikhel, 1998a)。但并不是所有的昆虫都具有 O-联糖功能域，如果该结构真的与受体延伸相关，那么为什么有些昆虫 VgRs 不需要延展，这一点仍不清楚(Tufail and Takeda, 2007)。表皮生长因子前体同源域一般是由 B 型重复序列及特征序列 YWTD 构成而形成的 β 螺旋域(Springer, 1998)。昆虫的 VgR 有 2 个表皮生长因子前体同源域，分别由 4 个和 3 个 B 型重复序列构成(Willnow, 1999)。烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 的表皮生长因子由重复 YWTD 构成，组成了 3 个 B 型重复序列，结构的不同也许预示着烟粉虱 MEAM1 隐种在 Vg 内吞机理方面和其他昆虫可能不同。

以 NCBI 数据库中的蛋白质三维结构数据库搜索到的低密度脂蛋白受体为模板构建三维结构，结

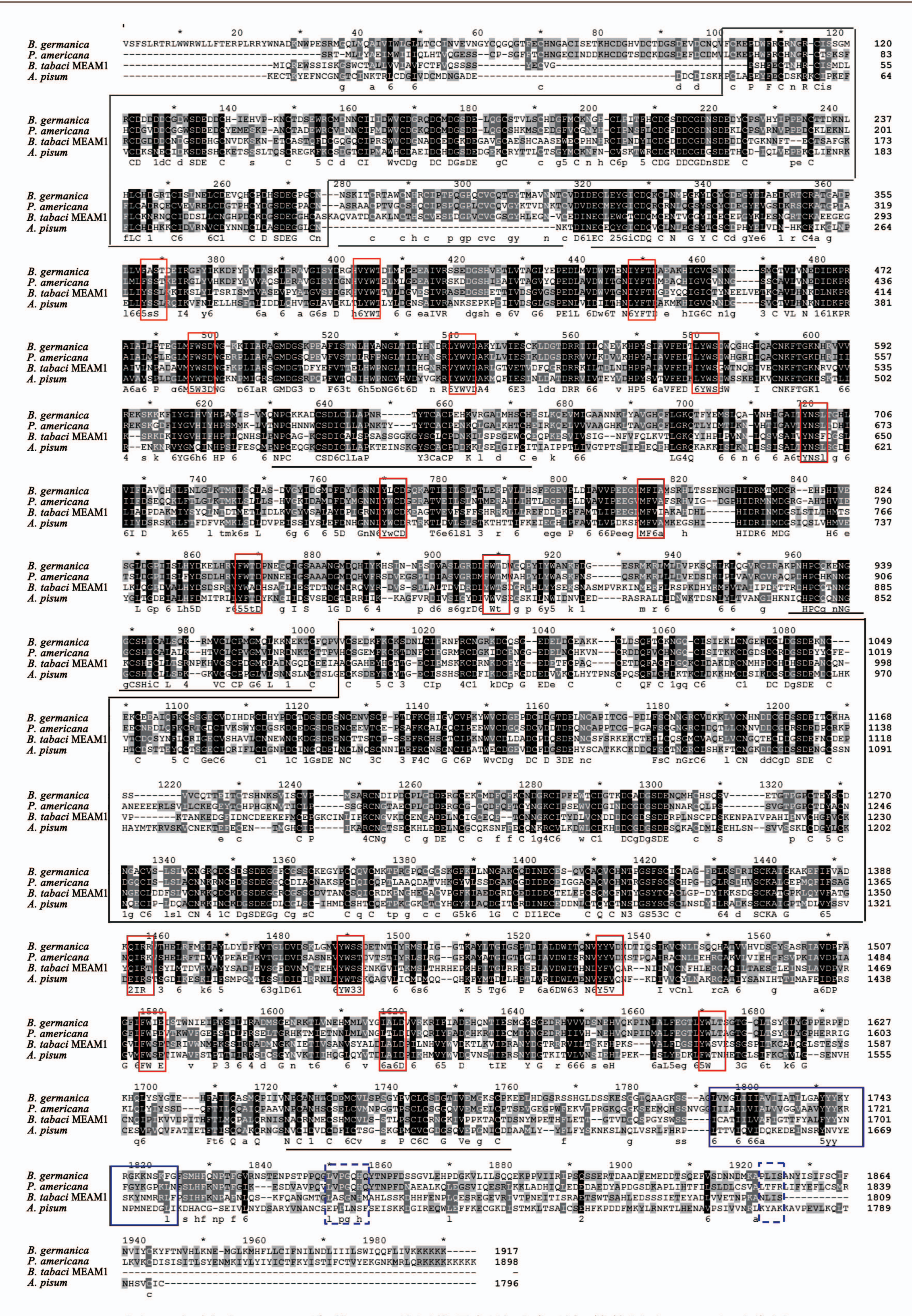


图 2 烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 基因推导氨基酸序列与其他昆虫 VgR 比对分析

Fig. 2 Comparison of the deduced amino acid sequences of VgR genes from *Bemisia tabaci* MEAM1 and other insects

A. pisum：豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum VgR*（XP_001944152.2）；*B. germanica*：德国小蠊 *Blattella germanica VgR*（CAJ19121.1）；*P. americana*：美洲大蠊 *Periplaneta americana VgR*（BAC02725.2）；*B. tabaci*：烟粉虱 MEAM1 隐种 *Bemisia tabaci* MEAM1 *VgR*. 黑色方框示配体结合域；黑色直线示表皮生长因子前体同源域；蓝色方框示 O-联糖功能域；蓝色虚框示跨膜域及胞质尾域；红色方框示 YWTD β 螺旋域。The ligand binding domains are in black box; the epidermal growth factor precursor homology domain is underlined; the O-linked carbohydrate domain is in blue box; the transmembrane domain and cytoplasmic domain are in blue virtual box; and the β-propeller domain is in red box.

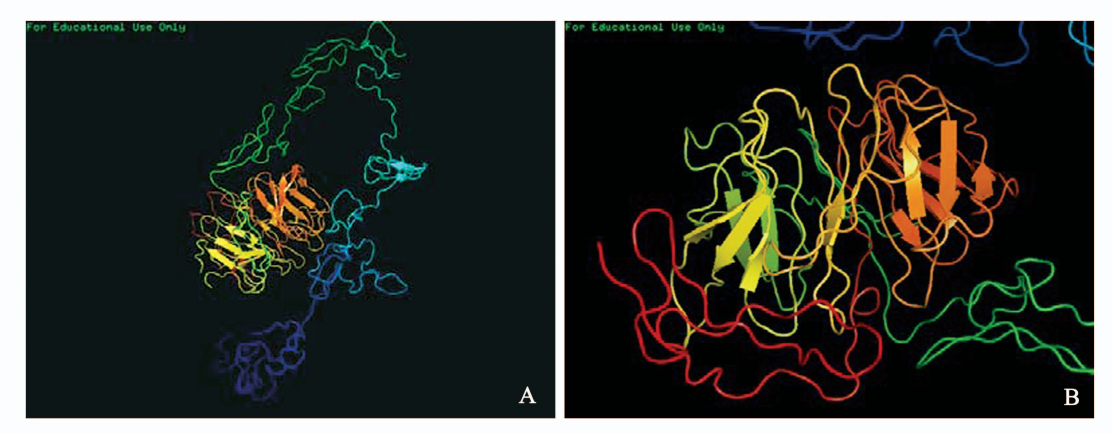


图 3　烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 蛋白质三维结构同源建模分析

Fig. 3　Homologous modeling analysis of three-dimensional structure of the VgR protein in *Bemisia tabaci* MEAM1

A：三维结构 Three-dimensional structure；B：膜外结构放大 Amplification of the outer membrane structure.

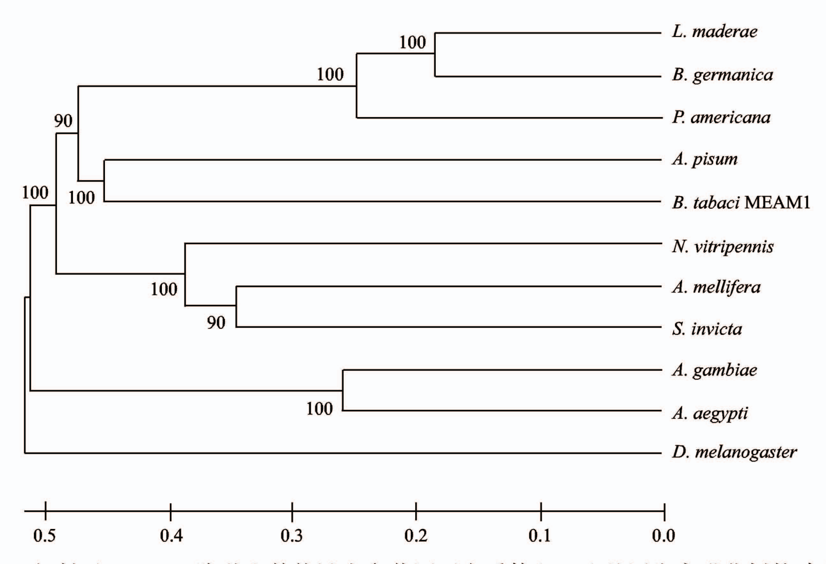


图 4　烟粉虱 MEAM1 隐种和其他昆虫卵黄原蛋白受体(VgR)基因发育进化树构建分析

Fig. 4　Phylogenetic tree of VgRs in *Bemisia tabaci* MEAM1 and other insects based on amino acid sequence

VgR 来源及 GenBank 登录号 Origin of VgRs and their GenBank accession numbers：*L. maderae*：马得拉蜚蠊 *Leucophaea maderae*（BAE93218.1）；*B. germanica*：德国小蠊 *Blattella germanica*（CAJ19121.1）；*P. americana*：美洲大蠊 *Periplaneta americana*（BAC02725.2）；*A. pisum*：豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum*（XP_001944152.2）；*B. tabaci* MEAM1：烟粉虱 MEAM1 隐种 *Bemsia tabaci* MEAM1；*N. vitripennis*：丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis*（XP_001602954.2）；*A. mellifera*：西方蜜蜂 *Apis mellifera*（XP_001121707.2）；*S. invicta*：红火蚁 *Solenopsis invicta*（AAP92450.1）；*A. gambiae*：冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae*（XP_310672.5）；*A. aegypti*：埃及伊蚊 *Aedes aegypti*（AAK15810.1）；*D. melanogaster*：黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*（AAB60217.1）.

果表明 VgR 在 N-端分别由两组各 6 个 β 折叠形成两个环状结构，而 C-端有一个由一对 β 折叠形成的跨膜结构，跨膜结构是低密度脂蛋白受体家族的结构特征之一，对 C-端很长的线状结构分析认为蛋白质结构不太稳定。构建的系统发育进化树表明昆虫 VgR 在进化上相对比较保守，同一目的昆虫处于同一进化枝上，且烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 与同属于半翅目的豌豆蚜 *A. pisum* VgR 最为接近。通过对烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 基因的克隆、分析及结构域的预测，可以为进一步研究其功能奠定基础。

利用实时荧光定量 PCR 技术对烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 转录表达研究的结果表明，VgR 基因在伪蛹期开始表达，羽化后 1 d 达到高峰，此后逐渐降低。3 d 后又逐渐升高，直至羽化后 7 d 达到峰值。在其他昆虫的 VgR 相关研究中，红火蚁 *S. invicta* VgR mRNA 转录水平在初羽化的雌虫中表达量较高（Chen *et al.*，2004）。埃及伊蚊 *A. aegypti* 的 VgR mRNA 转录水平在羽化 1 d 时迅速升高，并在卵黄

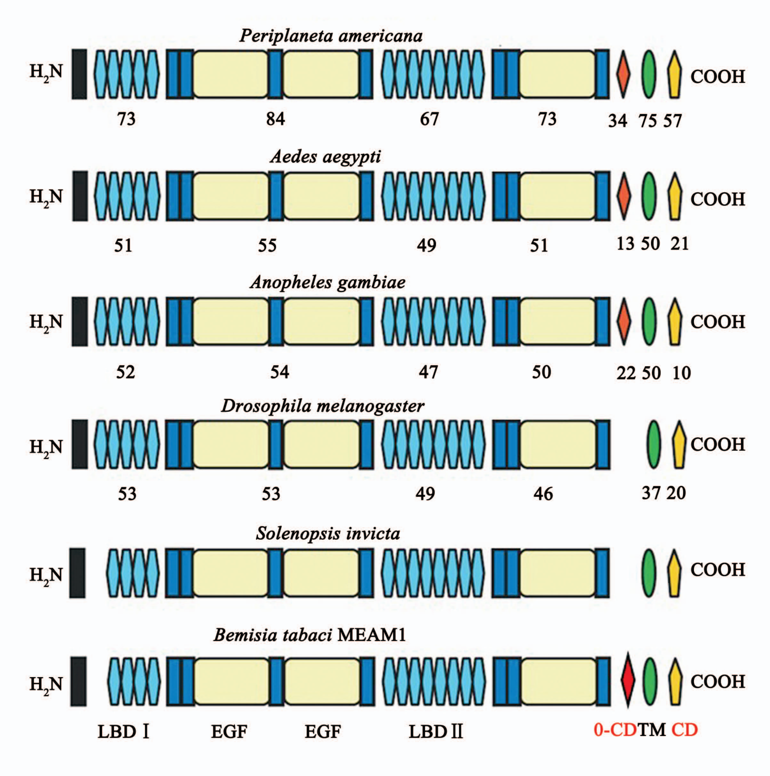


图 5 烟粉虱 MEAM1 隐种与其他昆虫 VgR 蛋白质功能同源结构域

Fig. 5 VgR protein domains in functional homologs of *Bemisia tabaci* MEAM1 and other insects

LBD：配体结合域 Ligand binding domain；EGF：表皮生长因子前体同源域 Epidermal growth factor like domain；O-CD：O-联糖功能域 O-linked carbohydrate domain；TM：跨膜域 Transmembrane domain；CD：胞质尾域 Cytoplasmic domain. VgR 来源及 GenBank 登录号 Origin of VgRs and their GenBank accession numbers：*Periplaneta americana*：美洲大蠊（BAC02725.2）；*Aedes aegypti*：埃及伊蚊（AAK15810.1）；*Anopheles gambiae*：冈比亚按蚊（XP_310672.5）；*Drosophila melanogaster*：黑腹果蝇（AAB60217.1）；*Solenopsis invicta*：红火蚁（AAP92450.1）；*Bemisia tabaci* MEAM1：烟粉虱 MEAM1 隐种.

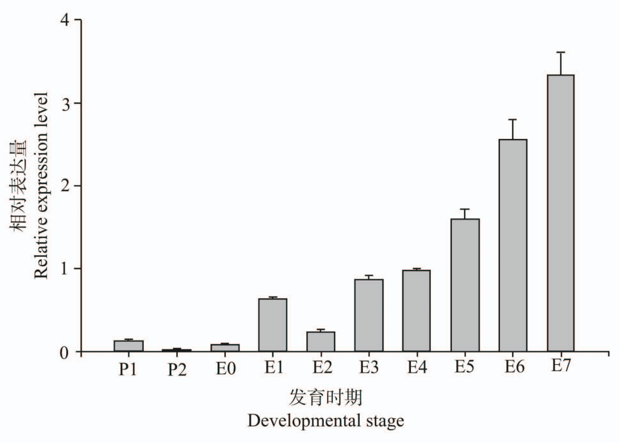


图 6 烟粉虱 MEAM1 隐种各发育时期 VgR mRNA 转录水平的定量分析

Fig. 6 Quantitative analysis of VgR mRNA level at different developmental stages in *Bemisia tabaci* MEAM1

图中数据为平均值 ± *SE*。Data in the figure are mean ± *SE*. P1，P2：伪蛹期第 1 – 2 天 1st and 2nd day at the pseudo-pupal stage；E0：初羽化成虫 Newly emerged adult；E1 – E7：羽化后第 1 – 7 天 1st to 7th day after eclosion.

发生阶段持续增多，直到吸血 24 h 后达到峰值（Cho and Raikhel，2001）。蜚蠊 VgR 基因表达谱也与之相近，在卵黄发生前期表达水平较高，而在卵黄发生阶段逐步升高（Tufail and Takeda，2005，2007；Ciudad *et al*.，2006）。对于昆虫以外的其他物种，如鸡和虹鳟鱼，VgR mRNA 转录水平在卵黄发生前期大量表达，而在整个卵黄发生过程中表达量较低（Bujo *et al*.，1995b；Davail *et al*.，1998）。结合本研究的结果，进一步说明昆虫 VgR 与卵黄发生过程相关，并且在卵黄发生的前期具有高表达量，而在整个卵黄发生过程中呈逐步上升的趋势。我们前期的研究表明，烟粉虱 MEAM1 隐种的卵黄原蛋白基因同样在伪蛹期表达且在羽化后 7 d 内转录水平逐渐升高（Guo *et al*.，2012），由此推测，烟粉虱 MEAM1 隐种的卵黄原蛋白与卵黄原蛋白受体基因具有相同表达动态。但是，至于烟粉虱 MEAM1 隐种 VgR 的功能及其摄取 Vg 的机理，尚需通过 RNA 干扰、蛋白互作等技术进行深入探讨。

参考文献（References）

Bujo H, Lindstedt KA, Hermann M, Dalmau LM, Nimpf J, Schneider, WJ, 1995a. Chicken oocytes and somatic cells express different splice variants of a multifunctional receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 270 (40): 23546 – 23551.

Bujo H, Yamamoto T, Hayashi K, Hermann M, Nimpf J, Schneider WJ, 1995b. Mutant oocytic low density lipoprotein receptor gene family member causes atherosclerosis and female sterility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(21): 9905 – 9909.

Chen ME, Lewis DK, Keeley LL, Pietrantonio PV, 2004. cDNA cloning and transcriptional regulation of the vitellogenin receptor from the fire ant, *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae). *Insect Molecular Biology*, 13(2): 195 – 204.

Cho KH, Raikhel AS, 2001. Organization and developmental expression of the mosquito vitellogenin receptor gene. *Insect Molecular Biology*, 10(5): 465 – 474.

Ciudad L, Piulachs MD, Bellés X, 2006. Systemic RNAi of the cockroach vitellogenin receptor results in a phenotype similar to that of the *Drosophila* yolkless mutant. *FEBS Journal*, 273 (2): 325 – 335.

Davail B, Pakdel F, Bujo H, Perazzolo LM, Waclawek M, Schneider WJ, Menn FL, 1998. Evolution of oogenesis: the receptor for vitellogenin from the rainbow trout. *Journal of Lipid Research*, 39: 1929 – 1937.

De Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB, 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology*, 56: 1 – 19.

Fass D, Blacklow S, Kim PS, Berger JM, 1997. Molecular basis of familial hypercholesterolaemia from structure of LDL receptor module. *Nature*, 388: 691 – 693.

Goldstein JL, Brown MS, 1974. Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 249(16): 5153 – 5162.

Guo JY, Dong SZ, Yang XL, Cheng L, Wan FH, Zhou XP, Liu SS, Ye GY, 2012. Enhanced vitellogenesis in a whitefly via feeding on a begomovirus-infected plant. *PLoS ONE*, 7(8): e43567.

Guo JY, Ye GY, Dong SZ, Liu SS, 2010. An invasive whitefly feeding on a virus-infected plant increased its egg production and realized fecundity. *PLoS ONE*, 5(7): e11713.

Jiu M, Zhou XP, Tong L, Xu J, Yang X, Wan FH, Liu SS, 2007. Vector-virus mutualism accelerates population increase of an invasive whitefly. *PLoS ONE*, 2(1): e182.

Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods*, 25(4): 402 – 408.

Roehrkasten A, Ferenz HJ, 1992. Role of the lysine and arginine residues of vitellogenin in high affinity binding to vitellogenin receptors in locust oocyte membranes. *Molecular Cell Research*, 1133(2): 160 – 166.

Roth Z, Khalaila I, 2012. Identification and characterization of the vitellogenin receptor in *Macrobrachium rosenbergii* and its expression during vitellogenesis. *Molecular Reproduction and Development*, 79 (7): 478 – 487.

Sappington TW, Hays AR, Raikhel AS, 1995. Mosquito vitellogenin receptor: purification, developmental and biochemical characterization. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 25 (7): 807 – 817.

Sappington TW, Kokoza VA, Cho WL, Raikhel AS, 1996. Molecular characterization of the mosquito vitellogenin receptor reveals unexpected high homology to the *Drosophila* yolk protein receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(17): 8934 – 8999.

Sappington TW, Raikhel AS, 1998a. Molecular characteristics of insect vitellogenins and vitellogenin receptors. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 28: 277 – 300.

Sappington TW, Raikhel AS, 1998b. Ligand-binding domains in vitellogenin receptors and other LDL-receptor family members share a common ancestral ordering of cysteine-rich repeats. *Journal of Molecular Evolution*, 46(4): 476 – 487.

Schneider WJ, 1996. Vitellogenin receptors: oocyte-specific members of the low-density lipoprotein receptor supergene family. *International Review of Cytology*, 166: 103 – 137.

Schneider WJ, Nimpf J, 2003. LDL receptor relatives at the crossroad of endocytosis and signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 60 (5): 892 – 903.

Schonbaum CP, Lee S, Mahowald AP, 1995. The *Drosophila* yolkless gene encodes a vitellogenin receptor belonging to the low density lipoprotein receptor superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(5): 1485 – 1489.

Springer TA, 1998. An extracellular β-propeller module predicted in lipoprotein and scavenger receptors, tyrosine kinases, epidermal growth factor precursor, and extracellular matrix components. *Journal of Molecular Biology*, 283(4): 837 – 862.

Tufail M, Takeda M, 2005. Molecular cloning, characterization and regulation of the cockroach vitellogenin receptor during oogenesis. *Insect Molecular Biology*, 14(4): 389 – 401.

Tufail M, Takeda M, 2009. Insect vitellogenin/lipophorin receptors: molecular structures, role in oogenesis, and regulatory mechanisms. *Journal of Insect Physiology*, 55(2): 88 – 104.

Tufail M, Takeda M, 2007. Molecular cloning and developmental expression pattern of the vitellogenin receptor from the cockroach, *Leucophaea maderae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37 (3): 235 – 245.

Wang MM, Huang JX, Wu J, He SY, 2010. Review on the insect vitellogenin receptor. *Chinese Bulletin of Entomology*, 47 (4): 626 – 632. [汪明明，黄家兴，吴杰，和绍禹，2010. 昆虫卵黄原蛋白受体的研究进展. 昆虫知识，47(4): 626 – 632]

Willnow TE, 1999. The low-density lipoprotein receptor gene family: multiple roles in lipid metabolism. *Journal of Molecular Medicine*, 77(3): 306 – 315.

Ziegler R, Antwerpen RV, 2006. Lipid uptake by insect oocytes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 36(4): 264 – 272.

（责任编辑：赵利辉）